

L'ALTÉRATION DES BOIS D'OEUVRE DE HÊTRE (FAGUS SILVATICA L.)

par *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. et *Verticicladiella procera* Kendrick

par G. KILBERTUS, F. MANGENOT, D. RADTKE*

RÉSUMÉ. — L'altération du bois de hêtre par *Fusarium solani* et *Verticicladiella procera* a été étudiée en microscopie électronique durant 4 semaines. Les mécanismes et les possibilités de biodégradation des hyphes sont déjà évidents après cette période. L'action de *V. procera* se traduit essentiellement par une érosion de la surface interne des parois végétales, les passages de cellule à cellule se faisant par les ponctuations. *F. solani* est capable en plus de perforer les parois et d'utiliser rapidement la couche S₂ de ces dernières.

SUMMARY. — Alteration of beech wood by *Fusarium solani* and *Verticicladiella procera* was studied with electron microscopy for 4 weeks. Mechanisms for, and potentials of biodegradation were evident even after this short incubation time. *V. procera* mainly eroded the internal surface of cell walls; the hyphae passed from cell to cell by pits. *F. solani* was able to perforate walls and to use the S₂ layer.

INTRODUCTION

L'envahissement parfois rapide des bois d'œuvre, par les microorganismes, est en partie lié au manque de concurrents normalement présents dans les conditions naturelles. La dégradation, en l'absence de chaînes trophiques et d'action conjuguée des germes, se traduit alors par des altérations plus ou moins caractéristiques en fonction du champignon lignivore considéré et de la nature du substrat envahi.

* Université de Nancy I. Centre de 2e Cycle, Laboratoire de Botanique et de Microbiologie, Case Officielle n° 140, 54037 Nancy Cedex.

Ces modifications provoquées par l'action hyphale ne se traduisent pas seulement par la métabolisation du tissu ligneux, mais également par une diminution de la valeur marchande du produit, par suite de l'altération de la teinte par exemple. C'est pourquoi il est très important de connaître les modalités d'attaque du bois par les microorganismes, en particulier au cours des tous premiers stades, de façon à pouvoir les contrôler ou les éviter par la suite.

Dans la présente étude, nous allons étudier en microscopie électronique l'altération du bois d'œuvre de hêtre, sous l'influence de deux ascomycètes : *Fusarium solani* et *Verticicladiella procera*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1) Préparation des buchettes (voir schéma a)

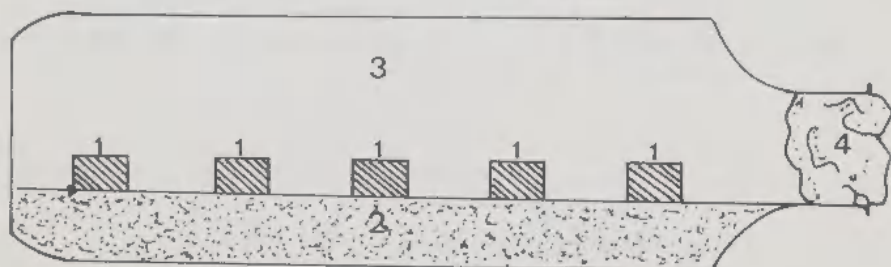
Les buchettes de 5 cm de long sur 0,8 cm de large et 0,5 cm de haut, ont été fabriquées à partir d'une planche de hêtre (*Fagus sylvatica* L.) provenant de la forêt d'Amance (54 France).

a. Echantillon expérimental :



b. Méthode d'incubation :

1. Buchette
2. Milieu de culture
3. Fiole de Roux
4. Coton



2) Incubation (voir schéma b)

Deux champignons, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. et *Verticicladiella procera* Kendrick, sont cultivés en fioles de Roux, sur milieu malt-gélosé (15 g de malt, 15 g de gélose pour un litre d'eau). Lorsque le champignon ■ envahi uniformément la surface du milieu, on introduit aseptiquement 5 buchettes stériles par fiole. Les durées d'incubation, à 20°C, sont respectivement de 2 et 4 semaines.

3) Études en microscopie électronique

a) Microscopie électronique à balayage

Des cubes de 0,5 cm de côté, sont préparés à partir des buchettes attaquées. La face transversale est affinée au microtome à congélation. Les échantillons sont ensuite fixés au glutaraldéhyde à 2% et au permanganate de potassium à 2%. Ils sont ensuite déshydratés à l'acétone, desséchés au point critique puis métallisés à l'or palladium.

b) Microscopie électronique à transmission

Des écailles de buchettes, prélevées dans les parties en contact avec le mycélium, sont fixées sous vide à l'O₂O₄ à 2% durant deux heures. Après inclusion dans l'épon, les coupes fines obtenues sont contrastées au citrate de plomb (REYNOLDS, 1963).

RÉSULTATS

Les cubes témoins montrent une face transversale A, présentant de nombreux vaisseaux et des coupes longitudinales B avec des rayons multisériés C et uni-sériés D (fig. 1). Les ponctuations lenticulaires sont également très fréquentes (fig. 2). Ces nombreux orifices constituent autant de points de pénétration potentiels des mycéliums dans la mesure où les conditions climatiques ambiantes sont favorables. Le faible diamètre de ces cavités permet en outre la persistance de tensions élevées en eau, particulièrement propices au développement des champignons.

1) *Fusarium solani*

Après deux semaines de contact, ce champignon a colonisé les lumières cellulaires des éléments ligneux (fig. 4 et 5). Durant cette même période, il perfore les parois en émettant des expansions latérales au niveau de la couche S₂ (fig. 3). Cette image semble témoigner d'une action mécanique, avec écartement des différentes couches. Déjà en 1955, MEIER avait signalé que cette partie S₂ de la paroi des tissus ligneux des feuillus était attaquée en priorité, la dégradation se propageant vers la lamelle moyenne.

La traversée des parois peut également se réaliser selon un processus comparable à celui observable sur la figure 6. L'activité enzymatique se situe à la partie antérieure de l'hyphe, comme le prouvent les modifications ultrastructurales constatées à ce niveau. D'autre part le diamètre de l'hyphe, initialement compris entre 4 et 5 μm, passe à 1 μm dans la zone perforée. Des modifications sem-

blables ont été notées par BAYLISS (1908), NUTMANN (1929) et MEIER (1955). UNLIGIL et CHAFE (1974) (étude réalisée au cours de la dégradation du bois de *Picea glauca* par une pourriture molle) et MAC DONALD et MAC NABB (1971) (traversée des parois de *Ulmus carpinifolia* par *Ceratocystis ulmi*) ont présenté des images comparables en microscopie électronique.

Après 4 semaines d'incubation, on peut voir des altérations particulières (fig. 7). La surface interne de la paroi devient irrégulière et se charge plus ou moins d'éléments sphériques denses aux électrons. Dans le cas de la fig. 7, on peut en outre observer des cloisons typiques d'ascomycètes, le pore central étant obturé par un corps de Woronine. Enfin, la surface de l'hyphé est fréquemment recouverte par des expansions fibrillaires (fig. 8 et 9).

2) *Verticicladiella procera*

Comme dans le cas précédent, après deux semaines d'incubation, le plan ligneux est parcouru par le mycélium, mais l'invasion est plus importante (fig. 10).

Après quatre semaines, on rencontre fréquemment des hyphes au contact des punctuations (fig. 13), principales voies de passage des hyphes d'une cellule à l'autre. Les effets de l'attaque se traduisent par une érosion de la surface interne de la paroi végétale (fig. 11), la partie superficielle de cette dernière devenant souvent dense aux électrons (RADTKE, 1979). A ce stade, le cytoplasme du champignon est dense et les différents organites intracellulaires sont reconnaissables. L'émission de petits granules de mélanine est également constatée en surface de l'hyphé (fig. 11 et 13).

Après cette période d'incubation, le cytoplasme a tendance à s'éclaircir.

CONCLUSIONS

Incubées dans les mêmes conditions, les deux espèces fongiques utilisées présentent un comportement différent :

- *Lasarium solani*, après pénétration dans le substrat, érode activement les surfaces internes des parois végétales, au cours du cheminement des hyphes dans les cellules. Mais cette espèce est également capable de perforer les parois et d'utiliser rapidement la couche S₂.

- *Verticicladiella procera* semble se déplacer préférentiellement dans la lumière des cellules, les passages entre ces dernières s'effectuant par l'intermédiaire des punctuations. Son activité lytique se traduit également par une érosion de la surface interne des parois végétales.

Tous les mécanismes et possibilités de biodégradation des hyphes sont déjà évidents après quatre semaines d'incubation. Les essais que nous avons effectués après huit semaines (RADTKE, 1979), n'ont fait que confirmer nos premières observations. Les modifications ultérieures ne concernent plus que l'intensité de la pénétration du mycélium dans le bois, les modalités d'altération restant les mêmes.

L'observation en microscopie électronique constitue donc une technique relativement rapide pour mettre en évidence, non seulement le potentiel enzymatique des souches testées, mais également leur comportement vis-à-vis des substances protectrices, ce qui fera l'objet de nos prochaines expériences.

Nous exprimons nos remerciements à Mr M. MORELET du Laboratoire de Pathologie forestière du CNRF de Champenoux, qui nous a fourni les souches fongiques.

BIBLIOGRAPHIE

- BAYLISS J.S., 1908 - The biology of *Polystictus versicolor* Fries. *J. Ec. Biol.* 3 : 1-24.
- MAC DONALD W, et MAC NABB J.R., 1970 - Fine structural observations of the growth of *Ceratocystis ulmi* in Elm xylem tissue. *Bio Science* 20 : 19.
- MEIER H., 1955 - Über den Zellwandabbau durch Holzvermarschungspilze und die Submikroskopische Struktur von Fichtentracheiden und Birkenholzfasern. *Holz als Roh- als und Werk*, Heft 9.
- NUTMAN F.J., 1929 - Studies on wood-destroying Fungi. I. *Polyporus hispidus* Fr. *Ann. Appl. Biol.* 16 : 40-64.
- RADTKE D., 1979 - Décomposition du bois de Pin et de Hêtre par des champignons lignicoles. Standardisation d'une méthode d'étude. DEA Université de Nancy 1, 70 p.
- REYNOLDS E.S., 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron optique stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17 : 171-191.
- UNLIGIL H.H. et CHAFE S.C., 1974 - Perforation hyphae of soft rot fungi in wood of white spruce (*Picea glauca* (Moench.) Voss.), *Wood Science and Technology, New York* 8 : 27-32.

LÉGENDES DES PLANCHES (Les échelles sont données en μm)

Pl. I. - 1: Cube de hêtre montrant la face transversale A, la coupe longitudinale B, les rayons multisériés C et unisériés D. 2: Ponctuations lenticulaires dans un vaisseau de hêtre. 3: Perforation et écartement mécanique des différentes couches de la paroi cellulaire de hêtre par les expansions émises par l'hyphé de *Fusarium solani*. Incubation : 2 semaines. 4: Mycélium de *Fusarium solani* dans les vaisseaux de hêtre. Incubation : 2 semaines. 5: Mycélium de *Fusarium solani* cheminant dans la lumière des cellules de hêtre. Incubation : 2 semaines.

Pl. II. - 6: Perforation d'une paroi de cellule de hêtre avec amincissement de l'hyphé de *Fusarium solani*. Incubation : 2 semaines. 7: Mycélium de *Fusarium solani* au contact d'une paroi de cellule de hêtre. La cloison de l'hyphé avec ses corps de Woronine est caractéristique des ascomycètes. Érosion de la paroi. Incubation : 4 semaines. 8: Hyphes se développant à proximité d'une ponctuation. Apparition de substances denses aux électrons à la surface interne de la cellule de hêtre et autour de l'hyphé de *Fusarium solani*. Incubation : 4 semaines. 9: Hyphé de *Fusarium solani* contenue dans une fissure provoquée par l'écartement des cellules de hêtre. Incubation : 4 semaines.

Pl. III. - 10: Hyphes de *Verticicladiella procera* dans la lumière des vaisseaux et des fibres de hêtre. Incubation : 2 semaines. 11: Hyphes de *Verticicladiella procera* à la surface interne de la paroi cellulaire de hêtre. Érosion de cette surface. Incubation : 2 semaines. 12: Hyphé de *Verticicladiella procera* dans la lumière d'une cellule de hêtre. Le cytoplasme s'est éclairci et la paroi, dense aux électrons, libère des granules de mélanine. Incubation : 8 semaines. 13: Mycélium de *Verticicladiella procera* à proximité d'une ponctuation de bois de hêtre. Le protoplasme est dense. Incubation : 4 semaines.

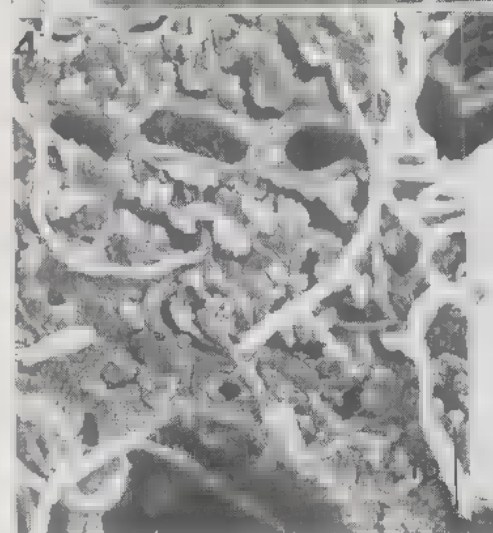
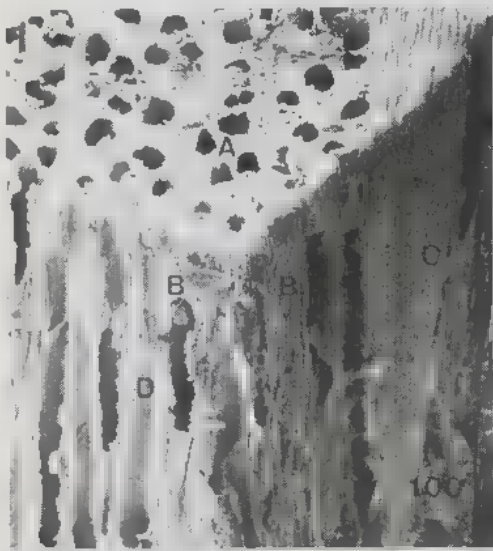


Planche I

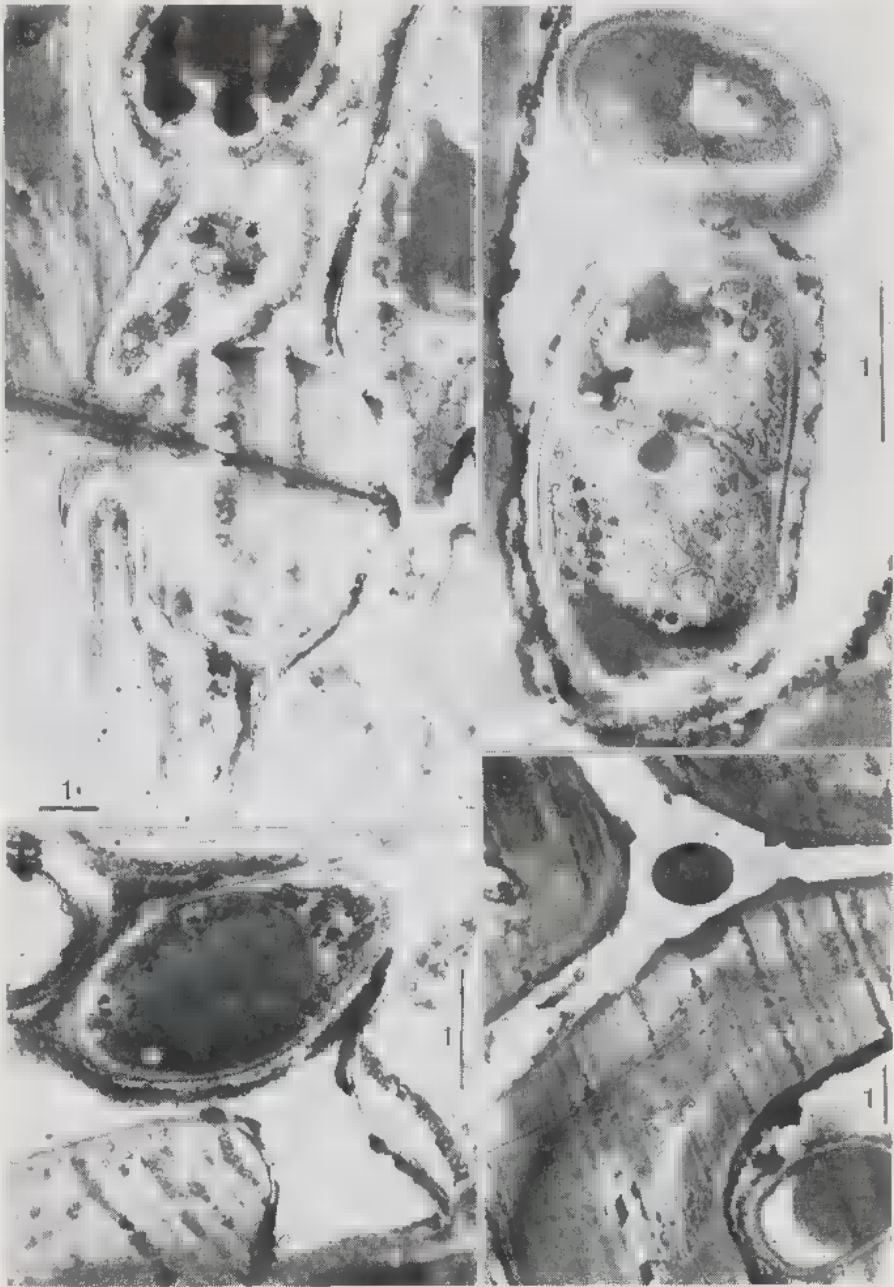


Planche II

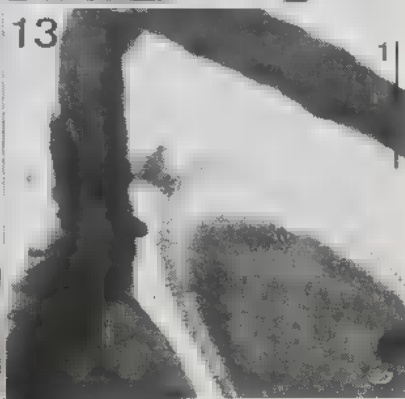
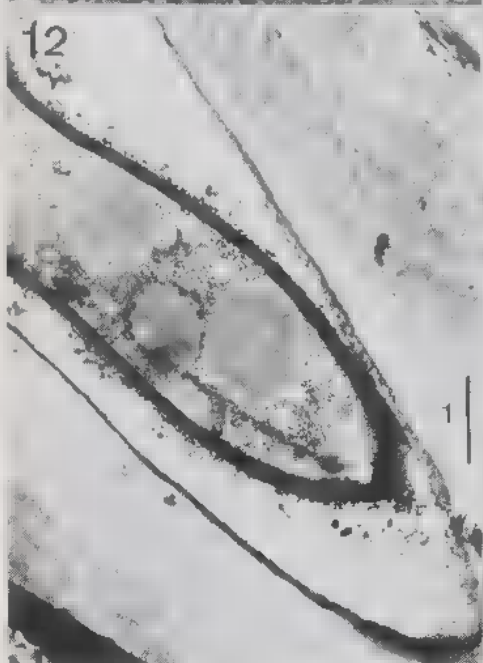
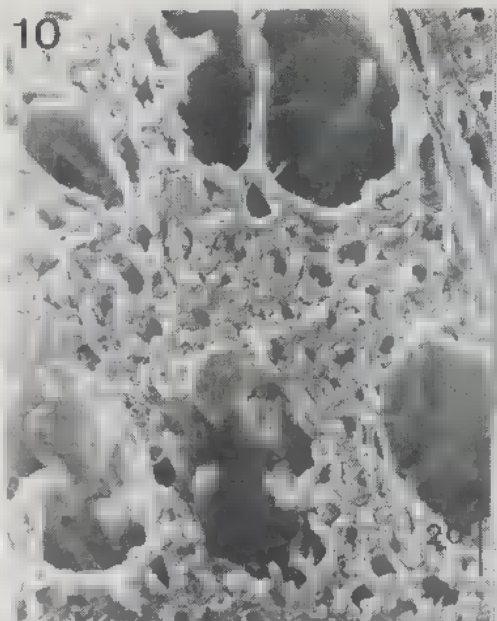


Planche III